

不同激素配比对碧桃离体快繁的影响

张文娥, 潘学军, 杨仕国, 曾家艳

(贵州大学 农学院 贵州 贵阳 550025)

摘要:以碧桃的单芽茎段为试材,以MS培养基为基本培养基,研究了不同的激素浓度及配比对碧桃腋芽诱导、增殖和生根的影响,结果表明:碧桃腋芽诱导的最佳培养基为MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L,在此培养基中碧桃腋芽诱导率可达93.3%,且生长良好;最佳增殖培养基为MS+KT 0.3 mg/L+NAA 0.08 mg/L,其增殖率可达75%,增殖系数为1.5;最佳的生根培养基为1/2 MS+NAA 0.3 mg/L,生根率为50%。该研究结果可为生产提供一定的参考。

关键词: 激素; 碧桃; 离体快繁

中图分类号: S 685.99; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)07-0212-03

碧桃是蔷薇科桃属的一个变种,早春开花,其花多重瓣,花色艳丽无比,具有极高的观赏价值,适合于湖滨、溪流、道路两侧和公园布置,也适合小庭院点缀和盆栽观赏,还常用于切花和制作盆景^[1]。目前,碧桃的繁殖多采用播种、扦插和嫁接的方法,但在自然条件下碧桃播种繁殖的周期长,繁殖速度极慢,扦插难生根,苗木整齐度差,且易在繁殖过程中积累病毒,繁殖较困难;嫁

接繁殖也受时间、气候和嫁接技术等条件的限制^[2]。而且碧桃较容易受到病毒和真菌细菌的侵染,长期采用营养繁殖的植株传毒快、发病率高,危害范围广,从而会影响种苗的生长发育,树势衰弱引起品种退化。采用组织培养技术,以碧桃新生枝条为材料快速繁殖获得大量无菌组培苗,为碧桃生产应用提供了技术支撑,对碧桃基因工程育种有一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以重瓣碧桃(*Prunus percica* var. *duplex*)的单芽茎段为试材,取自贵州大学花卉资源圃。

1.2 试验设计

1.2.1 腋芽的诱导与增殖 于2006年4~5月取碧桃新梢,按常规消毒程序进行消毒后接种到诱导培养基上

第一作者简介:张文娥(1976-),女,硕士,讲师,主要从事园艺植物生理与分子生物学方面的研究。E-mail: zhewene@yahoo.com.cn

基金项目: 贵州省自然科学基金资助项目(黔科合J字[2007] 2055号); 贵州大学人才科研资助项目(贵大人基合字 2006-700971301); 贵大资助项目(SRT字(20)号)。

收稿日期: 2008-02-11

from the leaves of *Smallanthus sonchifolius* J]. *European Journal of Nutrition*, 2003, 42(1): 61-66.

[3] 钱林, 丁长河, 李里特, 等. 雪莲果的化学组分及其功能特性 J]. *食品研究与开发* 2006 27(6): 179-180, 188.

[4] 李卓亚. 雪莲果化学成分及其药理作用的研究进展 J]. *食品与药品*, 2007, 9(6): 41-43.

[5] 马杰, 何蔚荭, 崔波. 蝴蝶兰原球茎状体的诱导及增殖 J]. *河南科学* 2005, 23(1): 51-53.

Tissue Culture in Vitro and Establishment of Regeneration System of *Smallanthus sonchifolius*

MA Jie CUI Bo, ZHANG Xian-yun, YUAN Xiur-yun

(Bio-technology Institute, Zhengzhou Teacher's College, Zhengzhou, Henan 450044, China)

Abstract: The regeneration system of *Smallanthus sonchifolius* was established in this paper by using leaves and axillary buds as explants in vitro culture. The results showed that MS can be used as the basic media of the regeneration system of *Smallanthus sonchifolius*. The appropriate medium used for calli and buds induction was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+sucrose 3%. The subculture medium was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+sucrose 3%. The rooting medium was 1/2 MS+NAA 0.3 mg/L+sucrose 3%.

Key words: *Smallanthus sonchifolius*; In vitro culture; Regeneration system

(见表 1)进行腋芽诱导培养,待腋芽长出后,切取腋芽茎段接种到增殖培养基上(见表 2)进行增殖培养,每瓶接种 3 个单芽茎段,每处理接种 10 瓶,重复 3 次。培养温度(26±2)℃,每日光照 12 h,光强 2 000 lx,7 d 后统计腋芽诱导和生长状况。

1.2.2 生根培养 将增殖培养且生长正常的碧桃试管苗转移到生根培养基上(见表 3),7 d 后逐渐统计结果。上述培养基均附加蔗糖 2%,琼脂 0.6%,pH 值 5.6~5.8。培养温度(25±1)℃,每日光照 16 h,光强 2 000 lx。

1.3 试验方法

培养基的配制、初代培养和生根培养参照王蒂的植物组织培养^[3]。

2 结果与分析

2.1 不同激素配比对碧桃腋芽诱导的影响

培养基中不同的激素类型和配比是影响植物组织培养能否成功的关键,为此,试验对 7 种启动培养基对碧桃初代培养的影响进行了研究(见表 1)。从表 1 可以看出,当培养基中以 BA 和 IBA 的不同浓度进行配比时,芽的生长随着激素浓度的升高而逐渐好转,由生长不良逐渐转为正常,腋芽诱导时间、腋芽诱导外植数、平均每个外植体产生芽数和腋芽平均株高均有上升,但芽均为黄绿色,植株较其他处理要矮小;以 KT 和 NAA 的不同浓度进行配比时,发芽时间变化不明显,而产生新芽株数和每个外植体平均产生芽数均有上升,当 KT 浓

度达 0.8 mg/L 时,产生新芽株数、每个外植体平均产生芽数均最高,但其幼苗的生长细小、瘦弱,成活率低。因此,MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 为碧桃腋芽诱导的最佳培养基。

2.2 不同培养基对碧桃腋芽增殖的影响

从表 2 的数据可看出,无论是以 BA 和 IBA 进行配比还是以 KT 和 NAA 进行配比,只要浓度适宜,对碧桃试管苗的增殖均有一定的效果,当在培养基中添加 BA 和 IBA 时,随着 BA 和 IBA 浓度的上升,幼苗的增殖率和增殖系数也在随着增多,幼苗高度也呈上升趋势,其生长势也由弱到强,但其处理所得幼苗的叶片均为黄绿色,植株均较矮小,且很容易衰老、枯黄;以 KT 和 NAA 进行配比时,幼苗的增殖率和增殖系数也随着激素浓度的升高而增大,当 KT 的浓度为 0.3 mg/L 时,其增殖率上升到 75.0%,增殖系数达 1.50,幼苗健壮,明显优于前面的处理,随着 KT 的浓度的上升,其增殖率和增殖系数分别由 75.0%和 1.50 上升至 90.0%和 1.70,当 KT 的浓度达 1.0 mg/L 而 NAA 的浓度达 0.5 mg/L 时,其增殖率和增殖系数最高,分别达到了 90.0%和 1.70,但其幼苗生长的很密,幼苗均很细小、瘦弱,其有效芽其实较少,成活率也较低,所以不是最佳的处理;综合分析可知:在碧桃的增殖培养中,以 KT 和 NAA 的激素配比更适宜于碧桃的增殖,其中以 MS+KT 0.3 mg/L+NAA 0.1 mg/L 为最佳。

表 1 不同激素配比对碧桃腋芽诱导的影响									
编号	培养基				接种数 /个	腋芽诱导 时间/d	腋芽诱导 率/%	平均株高 /cm	芽的生长状况
	6-BA	IBA	KT	NAA					
M1	1.0	0.5	—	—	90	9	77.8	0.8	芽黄绿色,生长不良
M2	1.5	1.0	—	—	90	8	82.2	0.9	芽黄绿色,生长不良
M3	2.0	1.0	—	—	90	8	84.4	1.1	芽淡绿色,生长正常
M4	—	—	0.4	0.1	90	8	90	2.20	芽绿色,植株较高
M5	—	—	0.5	0.1	90	7	93.3	2.50	芽绿色,生长健壮
M6	—	—	0.6	0.1	90	7	96.7	2.10	芽绿色,较瘦小
M7	—	—	0.8	0.1	90	7	97.8	2.00	芽绿色,较瘦小

表 2 不同激素配比对碧桃增殖的影响								
编号	6-BA	IBA	KT	NAA	增殖率/%	株高/cm	增殖系数	生长状况
1	0.2	0.1	—	—	31.7	1.5	0.62	未分化 叶片黄化,生长不良 出现玻璃化现象
2	0.3	0.1	—	—	30.0	1.4	0.58	未分化出新芽,发育不良 叶细小
3	0.4	0.2	—	—	30.0	1.5	0.60	没有分化出新芽,叶片枯黄
4	0.5	0.2	—	—	33.3	1.6	0.72	没有分化出新芽,幼苗为黄绿色 矮小
5	1.0	0.5	—	—	33.8	1.6	0.78	有分化出新芽,但较矮小 叶片黄绿色
6	1.5	0.5	—	—	38.4	1.7	0.78	新梢生长较健壮,叶片黄绿色,矮小
7	2.0	1.0	—	—	41.7	1.8	0.83	新梢正常生长,但叶片卷曲,黄绿色
8	2.5	1.0	—	—	45.0	1.9	0.87	新梢生长健壮,叶缘黄绿色
9	3.0	1.5	—	—	46.7	2.0	0.87	新梢较高,但较纤细 叶片易脱落
10	—	—	0.3	0.1	75.0	2.6	1.50	分化率较高 新梢生长健壮,植株较高
11	—	—	0.4	0.1	78.3	2.5	1.53	分化率高,新梢生长正常
12	—	—	0.5	0.1	78.4	2.4	1.55	新梢叶片绿色,较高
13	—	—	0.6	0.1	81.7	2.4	1.62	叶片绿色,幼苗生长高
14	—	—	0.8	0.15	83.3	2.3	1.63	叶片绿色,有些徒长
15	—	—	1.0	0.5	90.0	2.4	1.70	叶片绿色,幼苗生长瘦弱

表 3 不同的外源激素及不同浓度对碧桃
幼苗生根的影响

培养基 编号	IBA	NAA	生根率 /%	生根 系数	幼苗高 度/cm	幼苗的生长情况
1	0.10	—	0.0	0.0	1.0	植株生长缓慢
2	0.15	—	0.0	0.0	1.0	植株生长矮小
3	0.20	—	0.0	0.0	1.2	植株矮小、叶片黄化
4	0.25	—	0.0	0.0	1.2	植株矮小、容易老化
5	0.30	—	0.0	0.0	1.4	产生少量的愈伤组织,较矮小
6	0.35	—	0.0	0.0	1.5	产生较多的愈伤组织生长较缓慢
7	0.40	—	0.0	0.0	1.5	产生少许的根原基,生长较缓慢
8	0.45	—	0.0	0.0	1.7	产生较多的根原基生长正常
9	0.50	—	15.0	0.15	1.8	根较短,植株生长正常
10	1.0	—	25.0	0.25	1.9	植株较高,叶正常
11	1.5	—	25.0	0.50	1.9	无愈伤组织,植株生长正常
12	2.0	—	35.0	0.70	2.0	产生少量愈伤组织,植株生长正常
13	2.5	—	40.0	0.80	2.0	产生大量愈伤组织,植株生长正常
14	—	0.10	45.0	0.90	2.1	根较长,植株生长健壮
15	—	0.20	50.0	1.00	2.2	根粗壮,植株生长健壮
16	—	0.30	50.0	2.00	2.5	根系生长旺盛,粗壮,植株生长健壮
17	—	0.40	55.0	1.65	2.0	有较多的愈伤组织,植株生长正常
18	—	0.50	55.0	1.65	2.1	有愈伤,根系易断,幼苗生长正常

2.3 不同激素配比对碧桃生根的影响

根据表 3 分析,在培养基中添加 IBA 时,幼苗的生根系数和生根率会随着浓度的升高而增多,但生根较少,也较短,浓度到 2.0 mg/L 时会产生少量愈伤组织,到 2.5 mg/L 时会产生大量愈伤组织,不利于幼苗的生根。在培养基中添加 NAA 时,幼苗会生根较多,幼苗也较高,当 NAA 浓度为 0.30 mg/L 时,幼苗生长健壮,根系发育良好,虽然只有 2 条根,但为直接生根,移栽成活率较高;当浓度继续增加,生根条数会增多,但愈伤组织也随之增多。因幼苗的根系与茎之间有愈伤组织相连,在转接和移植时很容易断根,从而降低了幼苗移栽的成活率。因此,碧桃生根培养基以添加 NAA 为宜,添加 NAA 的浓度也不宜过高,该试验中以 NAA 0.30 mg/L 生根效果最好。

3 讨论与结论

在植物组织培养中,激素种类和浓度对培养物的影响很大^[3]。许多研究者在桃属植物的组织培养中也得到了相同的结论^[4-8]。研究也证实了这一点,在碧桃离体快繁的腋芽诱导阶段,使用高浓度的细胞分裂素和低浓度的生长素,随着离体快繁的进行,应不断降低细胞分裂素的比例,直至在生根阶段,完全不用细胞分裂素;且在试验中发现不同的生长素和细胞分裂素的种类对碧桃碧桃腋芽诱导、茎段增殖和生根效果的影响差异很大;在相同的激素情况下,不同的激素浓度和对比对碧桃离体快繁的影响也不相同;在碧桃的离体快繁中,使用 KT 比 6-BA 效果好,而生长素类的 NAA 对碧桃的腋芽诱导、茎段增殖和生根的效果优于 IBA 的。试验筛选到了碧桃离体快繁中的最佳诱导培养基为 MS+KT 0.5 mg/L +NAA 0.1 mg/L,其诱导率可达 93.3%;增殖培养基为 MS+KT 0.3 mg/L +NAA 0.08 mg/L,其增殖率为 75%;生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.3 mg/L,其生根率仅为 50%,可见碧桃的生根培养仍是其离体快繁中的难点,也是今后研究的重点。

参考文献

[1] 束怀瑞. 观赏桃新品种 龙柱碧桃 系列简介[J]. 山东省农技服务 2004(4): 8-11.
[2] 夏志会, 于志勇. 碧桃的繁殖与栽培管理[J]. 河北林业科技, 2005 (8): 113.
[3] 王蒂. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
[4] 韩明玉. 影响油桃叶片产生胚性愈伤组织[J]. 果树学报 2006, 23 (3): 370-374.
[5] 江虎军, 潘季淑, 孟新法. 桃茎尖培养技术的研究[J]. 北京农业大学学报 1993 19(1): 49-52.
[6] 白美发. 桃树的组培快繁试验[J]. 果树学报, 2004(3): 7-9.
[7] 吴延军, 徐昌杰, 张上隆. 桃组织培养和遗传转化研究现状及展望[J]. 果树学报 2002 19(2): 123-127.
[8] 范子南, 肖华山. 冬桃的离体繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1996 32(3): 199-200.

The Effect of Different Hormone on the Propagation in Vitro of *Prunurs persica* var. *duplex*

ZHANG Wen-e, PAN Xue-jun, YANG Shi-guo, ZENG Jia-yan
(Agricultural College of Guizhou University, Guiyang Guizhou 550025, China)

Abstract: Took the shoot with single bud of *Prunurs persica* var. *duplex* as the experiment materials, MS as the basic medium, the effect of different hormone type and concentration on the propagation in vitro of *Prunurs persica* var. *duplex* was studied. The results showed that the best medium for axillary bud inducing of *Prunurs persica* var *duplex* was MS+KT 0.5 mg/L +NAA 0.1 mg/L, the inducing percentage got to 93.3%; the optimum medium for multiplication was MS+KT 0.3 mg/L +NAA 0.1 mg/L, and on the medium the multiplication ratio was 75%; the 1/2 MS with NAA 0.3 mg/L was the best medium for seedling rooting and the rootability was only 50%, so in the future the rooting research was impotant.

Key words: Hormone; *Prunurs persica* var. *duplex*; Rapid propagation